

Федеральное государственное автономное образовательное
Учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт Фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

« _____ » _____ 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА СО
СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ И УРОВНЕМ КОНТРОЛЯ АТОПИЧЕСКОЙ
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

03.04.02 «Физика»

По программе 03.04.02.07 «Биофизика»

Руководитель _____ к.б.н. Смольникова М. В.

Выпускник _____ Иванова В.Б.

Рецензент _____ к. б. н. Брагина Е. Ю.

Красноярск 2017

Аннотация

Атопическая бронхиальная астма (АБА) является одним из наиболее распространенных и тяжелых многофакторных заболеваний. Основные вовлекаемые в аллергический процесс цитокины закодированы на длинном плече 5 хромосомы. Эта область включает всебя кластер генов цитокинов и генов, кодирующих, в том числе интерлейкин 4 (IL-4), интерлейкин 5 (IL-5). Результаты исследований ассоциации полиморфизмов указанных генов с бронхиальной астмой в разных популяциях разноречивы. Цель работы – получить распределение аллельных вариантов промоторных регионов генов цитокинов *IL-4* (C-590T, C-33T), *IL-5* (C-703T) у детей больных атопической бронхиальной астмой с различной степенью тяжести и уровнем контроля над течением заболевания г. Красноярск.

Сформированы группы из 210 детей больных АБА – с контролируемым (КАБА, n=101) и неконтролируемым течением заболевания (НАБА, n=109); легким (ЛБА, n=71), средним (СБА, n=61), тяжелым течением астмы (ТБА, n=77), а также группа контроля, состоящая из практически здоровых детей и взрослых (n=136). Генотипирование полиморфных вариантов генов было проведено методом ПЦР-ПДРФ анализа. Все индивиды, включенные в исследование, были европеоидного происхождения в трех поколениях, жители г. Красноярск.

Отмечена тенденция к ассоциации аллельного варианта T гена *IL-4* (C-33T) с заболеванием в группе АБА (p=0,08) и в группе КАБА (p=0,09). Показана тенденция к ассоциации аллельного варианта T полиморфизма C-33T гена *IL4* с заболеванием в группе ЛБА (p=0,09) Показано, что распределение аллельных вариантов промоторных регионов генов исследуемых цитокинов соответствуют распределению у европеоидов в других популяциях.

Ключевые слова: бронхиальная астма, полиморфизм генов, цитокины.

Содержание

Введение	5
1 Полиморфизм генов цитокинов при atopической бронхиальной астме	7
1.1 Atopическая бронхиальная астма	7
1.1.1 Распространенность бронхиальной астмы.....	7
1.1.2 Факторы, влияющие на распространенность бронхиальной астмы... 9	
1.1.3 Фенотипы бронхиальной астмы.....	10
1.1.4 Патогенез бронхиальной астмы	12
1.2 Участие генов цитокинов в патогенезе atopической бронхиальной астмы.....	14
1.2.1 Роль IL-4 в патогенезе atopической бронхиальной астмы.....	14
1.2.2 Исследования ассоциаций полиморфизмов гена <i>IL4 C-590T</i> и <i>C-33T</i> с atopической бронхиальной астмы	16
1.2.3 Роль IL-5 в патогенезе atopической бронхиальной астмы.....	18
1.2.4 Исследования ассоциации полиморфизма гена <i>IL5 C-703T</i> с atopической бронхиальной астмой.....	19
2 Материалы и методы	21
2.1 Выделение ДНК из периферической крови по протоколу DIAtom™DNAprep	21
2.2 Генотипирование	23
2.2.1. Амплификация	23
2.2.2 Рестрикция	24
2.3 Электрофорез	25
2.3.1 Метод приготовления агарозного геля.....	25
2.3.2 Электрофорез ДНК в агарозном геле	25
2.4 Статистический анализ	26
3 Результаты и обсуждение.....	27

3.1 Анализ выборок исследуемых детей, проживающих на территории Красноярского края	27
3.2 Анализ распределения аллельных вариантов генов цитокинов <i>IL-4</i> (C-590T, C-33T), <i>IL-5</i> (C-703T) у больных с различным уровнем тяжести atopической бронхиальной астмы	28
3.3 Анализ распределения аллельных вариантов генов цитокинов <i>IL-4</i> (C-590T, C-33T), <i>IL-5</i> (C-703T) при различных уровнях контроля над течением бронхиальной астмы.....	30
3.4 Сравнительная характеристика изученных аллельных вариантов с распространенностью в других европеоидных популяциях	32
Список сокращений	35
Выводы.....	36
Список литературы	37

Введение

Бронхиальная астма (БА) является одним из наиболее тяжелых аллергических заболеваний в детском возрасте, в ее основе чаще всего лежат атопические механизмы, характеризующиеся рецидивами бронхиальной обструкции [1, 2]. Формирование, развитие и течение АБА зависит от факторов окружающей среды и от генетических признаков. Патогенетической основой АБА является аллергическое воспаление, но до сих пор до конца не изучены многие этапы формирования и течения заболевания [3]. Возможно, это обусловлено особенностями эндогенной регуляции межклеточных взаимодействий, осуществляемой цитокинами – регуляторами защитных реакций организма.

Цитокины играют существенную роль в контроле всех стадий развития аллергических реакций и воспаления, поэтому анализ регуляции их активности имеет очень большое значение для понимания молекулярных основ патогенеза АБА [4]. Формирование аллергических реакций также осуществляется при участии цитокинов и их взаимодействий между собой [3, 5, 6]. Гены цитокинов характеризуются наличием одного или нескольких структурных полиморфизмов, которые оказывают влияние на функциональную активность или уровень экспрессии кодируемых белков [7]. Полиморфизмы представлены в популяции несколькими разновидностями – аллелями, что обуславливает разнообразие признаков внутри вида. Большую долю в генетические полиморфизмы вносят замены одного нуклеотида на другой, которые осуществляются во всех структурных элементах гена: экзонах, интронах, промоторном регионе, но функциональное значение имеют только полиморфизмы в промоторных регионах.

Выявление взаимосвязей генов, особенностей функционирования цитокинов и факторов риска заболевания поможет понять, как формируется неконтролируемое течение атопической бронхиальной астмы, а также позволит улучшить меры профилактики ее развития. В результате

биоинформативного исследования определены гены для БА. Одни из главных вовлекаемых в аллергический процесс цитокинов закодированы на длинном плече 5 хромосомы [8]. Эта область включает всебя кластер генов цитокинов, в том числе генов, кодирующих IL-4, IL-5. Исследования анализа ассоциаций полиморфизмов указанных генов с астмой противоречивы в разных популяциях [9 – 15]. Важно учитывать межпопуляционные и межэтнические особенности в распределении частот исследованных полиморфных вариантов генов цитокинов. В России полиморфизм генов цитокинов в популяциях и у больных астмой практически не исследован.

В связи с этим, целью настоящего исследования было получить распределение аллельных вариантов генов цитокинов *IL-4* (*C-590T*, *C-33T*), *IL-5* (*C-703T*) у детей больных atopической бронхиальной астмой с различной степенью тяжести и уровнем контроля заболевания в г. Красноярске.

Задачи:

1. Оценить распространенность аллельных вариантов полиморфизма гена *IL-4* (*C-590T*, *C-33T*), *IL-5* (*C-703T*) среди детей больных atopической бронхиальной астмой с различной степенью тяжести (легкая – ЛБА, средняя – СБА, тяжелая – ТБА).
2. Оценить распространенность аллельных вариантов полиморфизмов *IL-4* (*C-590T*, *C-33T*), *IL-5* (*C-703T*) среди детей больных atopической бронхиальной астмой с различным уровнем контроля над заболеванием (контролируемая – КАБА и неконтролируемая – НАБА).
3. Провести сравнительную характеристику изученных аллельных вариантов с распространенностью в других европеоидных популяциях.

Работа выполнена в ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера».

2 Материалы и методы

Была проведена выборка проб периферической крови у 210 детей больных АБА – с контролируемым (КАБА, n=101) и неконтролируемым течением заболевания (НАБА, n=109). Контрольная группа – практически здоровые дети (n=33) и взрослые из популяционной выборки без аллергии и АБА в анамнезе (n=103).

Перед объединением проведен сравнительный анализ частоты аллелей в контрольных группах разного возраста, статистически значимых отличий не выявлено. Все дети были сопоставимы по полу, возрасту, европеоидного происхождения в трех поколениях. Средний возраст детей с АБА составил $13,6 \pm 1,0$ лет, детей из контрольной группы – $14,8 \pm 0,68$ лет. Средний стаж болезни в группе КАБА находился в диапазоне $6,12 \pm 3,29$ лет, в группе НАБА $8,6 \pm 3,28$ лет. Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над заболеванием устанавливались в соответствие с рекомендациями GINA (2008).

2.1 Выделение ДНК из периферической крови по протоколу DIAtom™DNAprep

Выделение ДНК из проб сухой капли крови было осуществлено с помощью тест систем DIAtom™ DNA Prep (ООО «Центр молекулярной генетики», Москва). Набор реагентов DIAtom™ DNA Prep основан на использовании лизирующего реагента с гуанидинтиоцианатом, который предназначен для лизиса клеток, солюбилизации клеточного дебриса, а также для денатурации клеточных нуклеаз. В присутствии лизирующего реагента ДНК активно сорбируется на NucleoS - сорбенте, затем легко отмывается от белков и солей спиртовым раствором ДНК, элюированная из сорбента ЭкстраГеном™ или чистой водой.

Протокол выделения ДНК состоит из 21 пункта:

1. Приготовление рабочего раствора Солевого буфера. Содержимое флакона с 10-кратным Солевым буфером, 10 мл, перенести в мерный цилиндр, довести бидистиллированной водой до метки 100 мл и 96% этиловым спиртом до метки 300 мл и перемешать. Готовый рабочий раствор Солевого буфера следует хранить в герметично закрытой посуде при температуре 4 С
2. В пробирку объемом 1,5 мл внести 100 мкл исследуемой пробы, добавить 400 мкл Лизирующего реагента и перемешать содержимое пробирки переворачиванием (5-10 раз). Интенсивное встряхивание смеси не рекомендуется.
3. Термостатировать пробирку со смесью 5-7 мин. При температуре 65С. Если выделение ДНК проводится из твердого сухого мелкоизмельченного материала, то следует термостатировать 30-40 мин.
4. После термостатирования центрифугировать пробирку со смесью 10 сек при 5000 g в том случае, если смесь содержит несолюбилизованный клеточный дебрис или другой нерастворимый осадок. Прозрачный супернатант целиком перенести в чистую пробирку.
5. В пробирку с чистой смесью добавить 20 мкл суспензии сорбента NucleoS (Перед использованием NucleoS следует интенсивно встряхнуть на вортексе).
6. Пробирку поместить на ротатор и перемешивать 10 мин(10-20 об/мин)
7. Центрифугировать 10 сек при 5000 g.
8. Осторожно, не задевая осадка, удалить супернатант с помощью водоструйного насоса.
9. К осадку добавить 200 мкл Лизирующего реагента, тщательно перемешать на вортексе до полного гомогенного состояния.
10. Добавить в пробирку 1 мл рабочего раствора Солевого буфера (п.7.1).
11. Перемешать содержимое пробирки переворачиванием пробирки 5-10 раз
12. Центрифугировать 10 сек при 5000 g.
13. Осторожно удалить супернатант, не задевая осадка, с помощью водоструйного насоса.

14. Добавить в пробирку 1 мл Солевого буфера, перемешать содержимое пробирки на вортексе, центрифугировать 10 сек при 5000 g и осторожно удалить супернатант с помощью насоса.
15. Повторить положение 7.14.
16. посушить осадок при температуре 65С в течение 4-5 мин.
17. В эту же пробирку внести 50-100 мкл ЭкстраГена Е (100 мкл, если выделение ДНК проводится из 200 мл цельной крови или другой богатой ДНК пробы).
18. Суспендировать содержимое пробирки на вортексе 5-10 сек до получения гомогенной суспензии, затем термостатировать 4-5 мин при 65 С
19. Еще раз суспендировать содержимое пробирки на вортексе перед центрифугированием.
20. Центрифугировать 1 мин при 10000 g.
21. Перенести супернатант с ДНК в чистую пробирку. ДНК хранить при температуре -20 С

2.2 Генотипирование

2.2.1. Амплификация

Генотипирование аллельных вариантов полиморфизма *C-590T* и *C-33T* гена *IL4* (rs2243250) и полиморфизма *C-703T* гена *IL5* (rs2069812) было проведено методом рестриктного анализа продуктов амплификации (ПДРФ анализ) специфического участка генома.

Амплификацию осуществляли в пробирках типа «Эппендорф» с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя специфические структуры праймеров и параметры температурных циклов (температура отжига 60°C), и учитывая применение нами амплификатора «TercikMC2» («ДНК-технологии», Москва).

Реакционная среда общим объемом 20 мкл состояла из буфера для проведения ПЦР («Сибэнзим», Новосибирск), включающего в себя следующие реагенты: 60 mM Трис-HCl (pH 8,5); 25 mM KCl; 1,5 mM MgCl₂; 10 mM 0,1% меркаптоэтанола; TritonX-100; а также 30 пкмоль каждого олигонуклеотида; 125 мкM dNTP («Сибэнзим», Новосибирск); 50 – 200 нг геномной ДНК и 1 – 2 ед. Taq полимеразы («Сибэнзим», Новосибирск). Смесь помещали в пробирки типа «Эппендорф» и покрывали 5-10 мкл минерального масла («ICN», USA) для предотвращения испарения.

Программа амплификации включала стандартно предварительную денатурацию при 94°C в течении 5 минут, с последующими 30-35 циклами отжиг праймера температуре (1 мин – см. Таблицу 3), элонгации цепи при 72°C (1 мин) и денатурации при 94°C (1 мин). Программу завершала финальная элонгация при 72°C в течение 5 минут.

Таблица 3 – Последовательность и температура праймеров

Ген	Полиморфизм	Локализация в гене	Последовательность праймеров для ПЦР	Отжиг праймеров, °C	Размер амплификата
<i>IL4</i>	<i>C-590T</i>	Промотор	5'-cacctaaactgggagaacatggt-3' 5'- gttgtaatgcagtcctcctg-3'	60	601 п. н.
<i>IL4</i>	<i>C-33T</i>	Промотор	5'-caagtactgacaatctggtgt-3' 5'-cggcacatgctagcaggaa-3'	60	601 п. н.
<i>IL5</i>	<i>C-703T</i>	Промотор	5'-caggagagccaatcagt 5'-atgatgtccagactccaggatct-3'	60	163 п. н.

2.2.2 Рестрикция

Для рестрикции участков (*C-590T*, *C-33T*) *IL4* и (*C-703T*) *IL5* использовались соответствующие эндонуклеазы рестрикции (Таблица 2). Рестрикционная смесь включала 7-9 мкл амплификата, 1,0-1,2 мкл 10×буфера для рестрикции, поставляемого фирмой-производителем («Сибэнзим», Новосибирск;), и 2 единицы активности фермента. Рестрикцию продукта

амплификации генов проводили в течение 8 часов при рабочих температурах рестриктаз (Таблица 4).

Таблица 4 – Параметры рестрикции

Ген	Полимор- физм	Эндонуклеаза рестрикции(«Сибэнзим», Новосибирск)	Температура Рестрикции (°C)	Время рестрикции (ч)
<i>IL4</i>	<i>C-590T</i>	<i>Bme I8I</i>	37	8
<i>IL4</i>	<i>C-33T</i>	<i>BstMAI</i>	55	8
<i>IL5</i>	<i>C-703T</i>	<i>PstNI</i>	37	8

2.3 Электрофорез

2.3.1 Метод приготовления агарозного геля

- 1) 1,2 г агарозы
- 2) 60 мл буфера 1×TBE
- 3) Буфер TBE (200 мл 10×TBE довести до 2 л дистиллированной водой + 80 мкл Ethidiumbromide [1мг/мл])
1. Агарозу довести до кипения, кипятить 60 – 90 с.
2. Остудить до 50 – 60°C, лучше с покачиванием;
3. Залить в форежную камеру, слой агарозы 2.0% толщиной ~ 4 – 5 мм, дать агарозе застыть в течение 20 – 30 мин
4. На этой подложке заранее закрепить гребенку так, чтобы между зубцами и подложкой было расстояние 1 – 2мм;

2.3.2 Электрофорез ДНК в агарозном геле

Продукты рестрикции разделяли с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле. Нанести образец в лунки, в первую лунку нанести маркер длин ДНК pUC19/MspI. Наносить нужно очень аккуратно, образец должен

легко опуститься на дно и не выходить за пределы лунки. Включить источник тока, установить значение напряжения 120 – 130V, включить ток на 30 – 45 мин. Возле электродов должны быть небольшие пузырьки как индикатор, что ток пошел. Так как ДНК движется от минуса к плюсу, лунки с ДНК должны быть возле черного штекера (минуса). Выключить прибор, вытащить гель. Просмотреть гель в УФ-свете на трансиллюминаторе и сфотографировать. На фоне темно-синей подсветки УФ-светом в геле должны быть видны полосы красного цвета. Эти полосы и есть флюоресценция этидия, который связался с ДНК.

2.4 Статистический анализ

Распределение генотипов по полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (РХВ) с помощью критерия χ^2 и точного теста Фишера. Обработка результатов генетических исследований осуществлялась с использованием критерия отношения шансов OR с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI) (Mehta C.R., 1985). При OR=1 говорили об отсутствии связи между сравниваемыми факторами (признаками), при OR<1 – говорили об отрицательной связи и, при OR>1 – о положительной связи признаков. При $p>0,05$ говорили лишь о тенденции к ассоциации признаков друг с другом. При интерпретации результатов статистического анализа критической величиной уровня значимости считали $p=0,05$.

3 Результаты и обсуждение

3.1 Анализ выборок исследуемых детей, проживающих на территории Красноярского края

В исследование были включены дети с ранее установленным и подтвержденным диагнозом атопическая бронхиальная астма, персистирующее легкое, персистирующее среднее, персистирующее тяжелое течение, по степени контроля: контролируемая, неконтролируемая астма.

Критериями отбора было отсутствие ОРВИ и других острых заболеваний на момент обследования, непрерывная комбинированная базисная терапия в среднетерапевтических/высоких дозах в течение последних 3 месяцев, европеоидное происхождение (3 поколения). Контрольную группу составляли практически здоровые дети и взрослые с отсутствием аллергических заболеваний в семейном анамнезе, европеоидное происхождение (3 поколения).

По результатам клинического обследования больных разделили на группы по степени контроля АБА: с контролируемым течением (КАБА, n=101) и с неконтролируемым течением заболевания (НАБА, n=109). Этих же больных разделяли на больных с персистирующим легким (n=71), персистирующим средним (n=61) и персистирующим тяжелым (n=66) течением заболевания.

Контрольная группа – практически здоровые дети (n=33) и взрослые из популяционной выборки без аллергии и АБА в анамнезе (n=103). Перед объединением проведен сравнительный анализ частоты аллелей в контрольных группах разного возраста, статистически значимых отличий не выявлено.

3.2 Анализ распределения аллельных вариантов генов цитокинов *IL-4* (*C-590T*, *C-33T*), *IL-5* (*C-703T*) у больных с различным уровнем тяжести атопической бронхиальной астмы

Анализ литературы говорит о тщательном изучении особенностей формирования различных вариантов течения и исходов аллергического воспаления при атопической бронхиальной астме в последние годы [85 – 89].

Для изучения распределения аллельных вариантов генов цитокинов у больных АБА детей г. Красноярск было проведено генотипирование полиморфизмов *C-590T*, *C-33T* гена *IL-4* и *C-703T* гена *IL-5*.

Анализ частот генотипов и отдельных аллелей показал ряд статистически не значимых отличий в распределении среди больных АБА с различным уровнем тяжести заболевания и по сравнению со здоровыми лицами.

Для оценки взаимосвязи признака (генотипа цитокина) с заболеванием в группах больных АБА и практически здоровых детей без признаков атопии использовали χ^2 критерий или точный тест Фишера.

Таблица 5 – Частоты генотипов и аллелей изученных полиморфизмов генов у больных бронхиальной астмой с различным течением заболевания, % (n)

Генотип	Группы				ОШ (95% ДИ)	p
	ЛБА (1), (n=71)	СБА (2), (n=61)	ТБА (3), (n=77)	Контроль (4), (n=136)		
1	2	3	4	5	6	7
<i>IL4 C-33T(rs2070874)</i>						
<i>C/C</i>	46,48 (33)	54,10 (33)	51,95 (40)	62,5 (85)	ОШ _{1,4} =1,48 (0,94-2,35) ОШ _{2,4} =1,26 (0,77-2,06) ОШ _{3,4} =1,37 (0,87-2,16)	p_{1,4}=0,09 p _{2,4} =0,37 p _{3,4} =0,17
<i>C/T</i>	47,89 (34)	39,34 (24)	40,26 (31)	30,88 (42)		
<i>T/T</i>	5,63 (4)	6,56 (4)	7,79 (6)	6,62 (9)		
<i>C</i>	70,42 (100)	73,77 (90)	72,08 (111)	77,94 (212)		
<i>T</i>	29,58 (42)	26,23 (32)	27,92 (43)	22,06 (60)		

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5	6	7
IL4 C-590T(rs2243250)						
C/C	47,89 (34)	57,38 (35)	51,95 (40)	62,22 (84)	ОШ _{1,4} =1,39 (0,88-2,21) ОШ _{2,4} =1,12 (0,68-1,84) ОШ _{3,4} =1,33 (0,84-2,09)	p _{1,4} =0,16 p _{2,4} =0,66 p _{3,4} =0,22
C/T	46,48 (33)	36,07 (22)	40,26 (31)	30,37 (41)		
T/T	5,63 (4)	6,56 (4)	7,79 (6)	7,41 (10)		
C	71,13 (101)	75,41 (92)	72,08 (111)	77,41 (209)		
T	28,87 (41)	24,59 (30)	27,92 (43)	22,59 (61)		
IL5 C-703T(rs2069812)						
C/C	54,93 (39)	32,79 (20)	45,45 (35)	45,65 (63)	ОШ _{1,4} =0,82 (0,52-1,29) ОШ _{2,4} =1,27 (0,81-1,99) ОШ _{3,4} =1,08 (0,71-1,65)	p _{1,4} =0,39 p _{2,4} =0,3 p _{3,4} =0,72
C/T	36,62 (26)	62,30 (38)	44,16 (34)	47,10 (65)		
T/T	8,45 (6)	4,92 (3)	10,39 (8)	7,25 (10)		
C	73,24 (104)	63,93 (78)	67,53 (104)	69,20 (191)		
T	26,7 (38)	36,06 (44)	32,47 (50)	30,8 (85)		

При анализе полиморфизма *C-33T IL4* показано, что генотип *CC* чаще встречался в контрольной группе (62,5% по сравнению с подгруппами ЛБА (46,48%), СБА(54,10%), ТБА(51,95%), $p>0,05$). Гетерозиготный вариант *CT* преобладает в группе ЛБА 47,89%, по сравнению с контрольной группой 30,88%. Генотип *TT* больше в группе ТБА 7,79%, контроль – 6, 62%. Анализ аллелей показал преобладание аллеля *T* 29,58% в группе ЛБА по сравнению с контролем 22,06%. Замечена тенденция к ассоциации аллельного варианта *T* полиморфизма *C-33T* гена *IL4* с заболеванием в группе ЛБА (ОШ 1,48 (0,94-2,35), $p=0,09$).

Анализ полиморфизма *C-590T IL4* в подгруппах также не показал ассоциаций с заболеванием. Показано преобладание гомозиготного варианта *CC* в контрольной группе 62,22% по сравнению с подгруппами ЛБА (47,89%), СБА(57,38 %), ТБА(51,95 %), $p>0,05$. Гетерозиготный вариант *CT* преобладает в группе ЛБА 46,48% в сравнении с контролем 30,37%. Аллель *T* также больше в группе ЛБА 28,87%, чем в контроле 22, 59%, $p>0,05$.

Анализ подгрупп с полиморфизмом *C-703T* гена *IL5* показал похожее распределение аллелей и генотипов. Гетерозиготный вариант *CT* преобладает в группе СБА 62,3% по сравнению с контрольной группой 47,10%, генотип *TT* преобладает в группе ТБА 10,39% в сравнении с контролем 7,25%.

3.3 Анализ распределения аллельных вариантов генов цитокинов *IL-4* (*C-590T*, *C-33T*), *IL-5* (*C-703T*) при различных уровнях контроля над течением бронхиальной астмы

Для изучения особенностей распределения аллельных вариантов генов цитокинов у больных АБА детей г. Красноярск с различным уровнем контроля над течением заболевания было проведено генотипирование полиморфизмов *C-590T*, *C-33T* гена *IL-4* и *C-703T* гена *IL-5*. Анализ частот генотипов и отдельных аллелей в этих группах также показал ряд статистически не значимых отличий по сравнению со здоровыми лицами.

Для оценки взаимосвязи признака (генотипа цитокина) с заболеванием в группах больных АБА и практически здоровых детей без признаков атопии использовали χ^2 критерий или точный тест Фишера.

Таблица 6 – Частоты генотипов и аллелей *C-590T IL4* среди детей с атопической бронхиальной астмой

Генотип	Группы				ОШ (95% ДИ)	p
	АБА (1), (n=210)	КАБА (2), (n=101)	НАБА (3), (n=109)	Контроль (4), (n=136)		
1	2	3	4	5	6	7
<i>IL4 C-33T(rs2070874)</i>						
<i>C/C</i>	50,95 (107)	46,53 (47)	55,05 (60)	62,5 (85)	ОШ _{1,4} =1,36 (0,95-1,95) ОШ _{2,4} =1,28 (0,85-1,94) ОШ _{3,4} =1,28 (0,85-1,94)	p_{1,4}=0,09 p_{2,4}=0,08 p_{3,4}=0,24
<i>C/T</i>	42,38 (89)	48,51 (49)	36,70 (40)	30,88 (42)		
<i>T/T</i>	6,67 (14)	4,95 (5)	8,26 (9)	6,62 (9)		
<i>C</i>	72,14 (303)	70,79 (143)	73,39 (160)	77,94 (212)		
<i>T</i>	27,86 (117)	29,21 (59)	26,61 (58)	22,06 (60)		

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7
Продолжение таблицы 6						
IL4 C-590T(rs2243250)						
C/C	52,38 (110)	53,47 (54)	51,38 (56)	62,22 (84)	ОШ _{1,4} =1 (0,14-1,36) ОШ _{2,4} =0,91 (0,62-1,33) ОШ _{3,4} =1,09 (0,76-1,57)	p _{1,4} =1 p _{2,4} =0,62 p _{3,4} =0,64
C/T	40,95 (86)	42,57 (43)	39,45 (43)	30,37 (41)		
T/T	6,67 (14)	3,96 (4)	9,17 (10)	7,41 (10)		
C	72,86 (306)	74,75 (151)	71,1 (155)	77,41 (209)		
T	27,14 (114)	25,25 (51)	28,9 (63)	22,59 (61)		
IL5 C-703T(rs2069812)						
C/C	44,76 (94)	44,55 (45)	44,95 (49)	45,65 (63)	ОШ _{1,4} =1,04 (0,75-1,45) ОШ _{2,4} =1,04 (0,7-1,54) ОШ _{3,4} =1,04 (0,71-1,53)	p _{1,4} =0,81 p _{2,4} =0,84 p _{3,4} =0,84
C/T	47,14 (99)	47,52 (48)	46,79 (51)	47,10 (65)		
T/T	8,1 (17)	7,92 (8)	8,26 (9)	7,25 (10)		
C	68,33 (287)	68,32 (138)	68,35 (149)	69,20 (191)		
T	31,67 (133)	31,68 (64)	31,65 (69)	30,8 (85)		

При изучении полиморфизма *C-590T* промоторного участка гена *IL4* было показано преобладание частоты гомозиготного варианта *CC* (53,4% у больных КАБА, 62,2% в контрольной группе), частота генотипа *TT* выше у больных НАБА по сравнению с КАБА (9,2% и 3,9%, соответственно, $p>0,05$).

Аллельный вариант *T* и генотип *TT* гена *IL-4 (C-33T)* встречались во всех исследуемых выборках, замечена тенденция к ассоциации аллельного варианта *T* с заболеванием в группе АБА ($p=0,08$) и в группе КАБА ($p=0,09$).

Анализ распределения частот аллелей и генотипов *IL-5* показал практически одинаковое распределение между генотипами *CC* и *CT* во всех исследуемых выборках. Частота генотипа *CC* в группе АБА/контроль 44,8% и 47,1%, соответственно; генотипа *CT* в группе АБА/контролем 47,1% и 47,1% соответственно, $p>0,05$.

3.4 Сравнительная характеристика изученных аллельных вариантов с распространенностью в других европеоидных популяциях

Частоты аллелей генов специфичны по отношению к разным народам и это, возможно, лежит в основе различной подверженности к МФЗ в популяциях [85]. Именно поэтому важно изучать изменчивость генов-кандидатов МФЗ у представителей разных этнических групп. В 2008 – 2015 годах впервые был создан проект The 1000 Genomes Project о последовательностях геномов большого числа людей, чтобы обеспечить всесторонний ресурс о генетической изменчивости человека. Данные проекта доступны для научного сообщества через свободно доступные публичные базы данных IGSР: The International Genome Sample Resource [90].

Благодаря существующей базе данных были проанализированы исследуемые полиморфизмы в популяции европеоидов у жителей Юты с европеоидной родословной, Финов, Британцев в Англии и Шотландии, Иберийского населения в Испании и Итальянцев из Тосканы и проведено их сравнение с европеоидами г. Красноярска (Таблица 7).

Таблица 7 – Распределение генотипов и аллелей полиморфизмов генов *IL4* и *IL5* у европеоидов г. Красноярска и европеоидов в других популяциях, %(n)

Генотип	Группы					
	Европеоиды г.Красноярск (1)	Жители Юты с европейской родословной (2)	Финны (3)	Британцы в Англии и Шотландии (4)	Иберийское население в Испании (5)	Итальянцы из Тосканы (6)
1	2	3	4	5	6	7
<i>IL4</i> C-33T(rs2070874)						
C/C	62,5(85)	77,8 (77)	41,4(41)	79,1(72)	73,8(79)	78,5(84)
C/T	30,88(42)	19,2(19)	48,5(48)	18,7(17)	26,2(28)	17,8(19)
T/T	6,62(9)	3(3)	10,1(10)	2,2(2)	0	3,7(4)

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6	7
IL4 C-33T(rs2070874)						
C	77,94(212)	87,4 (173)	65,7(130)	88,5 (161)	86,9(186)	87,4(187)
T	22,06(60)	12,6 (25)	34,3(68)	11,5(21)	13,1(28)	12,6(27)
ОШ _{1,2} =0,51 (0,31-0,85) ОШ _{1,3} =1,85 (1,23-2,79) ОШ _{1,4} =0,46 (0,27-0,79) ОШ _{1,5} =0,53 (0,33-0,87) ОШ _{1,6} =0,51 (0,31-0,84)			p _{1,2} =0,009 p _{1,3} =0,003 p _{1,4} =0,004 p _{1,5} =0,01 p _{1,6} =0,007			
IL4 C-590T(rs2243250)						
C/C	62,22(84)	77,8 (77)	41,4 (41)	79,1 (72)	72,9 (78)	79,4 (85)
C/T	30,37(41)	19,2 (19)	48,5 (48)	18,7 (17)	27,1 (29)	16,8 (18)
T/T	7,41(10)	3 (3)	10,1 (10)	2,2 (2)	0	3,7 (4)
C	77,41(209)	87,4 (173)	65,7 (130)	88,5 (161)	86,4 (185)	87,9 (188)
T	22,59(61)	12,6 (25)	34,3 (68)	11,5 (21)	13,6 (29)	12,1 (26)
ОШ _{1,2} =0,50 (0,30-0,82) ОШ _{1,3} =1,79 (1,19-2,70) ОШ _{1,4} =0,45 (0,26-0,76) ОШ _{1,5} =0,54 (0,33-0,87) ОШ _{1,6} =0,47 (0,29-0,78)			p _{1,2} =0,006 p _{1,3} =0,005 p _{1,4} =0,003 p _{1,5} =0,01 p _{1,6} =0,003			
IL5 C-703T(rs2069812)						
C/C	45,65 (63)	54,5 (54)	47,5 (47)	49,5 (45)	42,1 (45)	46,7 (50)
C/T	47,10(65)	38,4 (38)	44,4 (44)	39,6 (36)	48,6 (52)	35,5 (38)
T/T	7,25(10)	7,1 (7)	8,1 (8)	11,0 (10)	9,3 (10)	17,8 (19)
C	69,20(191)	73,7 (146)	69,7 (138)	69,2 (126)	66,4 (142)	64,5 (138)
T	30,8 (85)	26,3 (52)	30,3 (60)	30,8 (56)	33,6 (72)	35,5 (76)
ОШ _{1,2} =0,80 (0,53-1,20) ОШ _{1,3} =0,98 (0,66-1,45) ОШ _{1,4} =1,00 (0,67-1,50) ОШ _{1,5} =1,14 (0,78-1,67) ОШ _{1,6} =1,24 (0,85-1,81)			p _{1,2} =0,28 p _{1,3} =0,91 p _{1,4} =0,99 p _{1,5} =0,5 p _{1,6} =0,27			

Распределение генотипов полиморфизма *C-33T* гена *IL4* встречаемость у европеоидов в популяциях *СС* варьируется в пределах 44,1 – 79,1%, *СТ* 17,9 – 48,5%, *ТТ* 0 – 10,1%, у европеоидов г. Красноярске 62,5%, 30,9%, 6,6% соответственно. При анализе аллелей полиморфизма *C-33T* гена *IL4* встречаемость у европеоидов в популяциях *С* 65,7 – 88,5%, *Т* 11,5 – 34,3%, у европеоидов г. Красноярск 77,9% и 22,06%, соответственно.

При анализе генотипов полиморфизма *C-590T* гена *IL4* встречаемость у европеоидов в популяциях *СС* варьируется в пределах 44,4 – 79,4%, *СТ* 16,8 – 48,5%, *ТТ* 0 – 10,1%, у европеоидов г. Красноярск 66,2%, 30,37%, 7,41% соответственно. При анализе аллелей полиморфизма *C-590T* гена *IL4* встречаемость у европеоидов в популяциях *С* 65,7 – 88,5%, *Т* 11,5 – 34,3%, у европеоидов г. Красноярск 77,4% и 22,6%, соответственно.

При анализе генотипов полиморфизма *C-703T* гена *IL-5* встречаемость у европеоидов в популяциях *СС* варьируется в пределах 42,1 – 54,5%, *СТ* 35,5 – 48,6%, *ТТ* 7,1 – 17,8%, у европеоидов г. Красноярск 45,65%, 47,1%, 7,25% соответственно. При анализе аллелей полиморфизма *C-703T* гена *IL-5* встречаемость у европеоидов в популяциях *С* 64,5 – 73,7%, *Т* 26,3 – 35,5%, у европеоидов г. Красноярск 69,2% и 30,8%, соответственно.

Распределение аллелей и генотипов промоторных регионов генов исследуемых цитокинов у европеоидов г. Красноярск соответствуют распределению у жителей Юты с европеоидной родословной, финов, британцев в Англии и Шотландии, Иберийского населения в Испании и итальянцев из Тосканы.

Список сокращений

АБА – Атопическая бронхиальная астма

IL-4 – Интерлейкин 4

IL-5 – Интерлейкин 5

КАБА – Контролируемая атопическая бронхиальная астма

НАБА – Неконтролируемая атопическая бронхиальная астма

ЛБА – Легкая бронхиальная астма

СБА – Средняя бронхиальная астма

ТБА – Тяжелая бронхиальная астма

БА – Бронхиальная астма

МФЗ – Мультифакториальное заболевание

Th2– Т-хелпер 2-го типа

Выводы

1. Распространенность аллельного варианта полиморфизма гена *IL-4* (C-33T) среди детей больных атопической бронхиальной астмой с различной степенью тяжести показывает тенденцию к ассоциации аллельного варианта T с АБА в группе с легкой формой заболевания (0,09%).
2. Распространенность аллельного варианта полиморфизма *IL-4* (C-33T) среди детей больных атопической бронхиальной астмой с различным уровнем контроля над заболеванием показывает тенденцию к ассоциации аллельного варианта T с АБА (0,08%) и КАБА ($p=0,09$).
3. Распределение аллельных вариантов промоторных регионов генов исследуемых цитокинов соответствуют распределению у европеоидов в других популяциях.

Список литературы

1. Намазовой-Барановой, Л. С. Аллергия у детей: от теории к практике / Л.С. Намазова-Баранова. – М.: Союз педиатров России, 2011 – 2012. – 667 с.
2. Баранов, В. С. Некоторые молекулярно-генетические аспекты этиопатогенеза атопической бронхиальной астмы / В. С. Баранов, Т. Э. Иващенко, О. В. Лаврова // Медицинская генетика. – 2008. – Т. 7, № 10. – С. 3–13.
3. Евминенко, С. А. Заболеваемость населения Красноярского края в 2014 году / С. А. Евминенко, В. К. Соколовская, Л. В. Антоняк, О. Б. Михайлова // Статистический сборник. – 2015. – С. 109.
4. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / Под ред. А. Г. Чучалина. – М.: Атмосфера, 2007. – 104 с.
5. Смирнова, С. В. Аллергия и псевдоаллергия (к вопросам распространённости, этиологии, патогенеза, дифференциальной диагностики и терапии) / С. В. Смирнова. – Красноярск: Гротеск, 1997. – 220 с.
6. Asher, M. I. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods / M. I. Asher // Eur. Respir. J. – 1995. – Vol. 8, No 3. – P. 483–491.
7. Смирнова, С. В. Аллергия и псевдоаллергия (к вопросам распространённости, этиологии, патогенеза, дифференциальной диагностики и терапии) / С. В. Смирнова. – Красноярск: Гротеск, 1997. – 220 с.
8. Фрейдин, М. Б. Полиморфизм генов интерлейкинов и их рецепторов: популяционная распространённость и связь с атопической бронхиальной астмой / М. Б. Фрейдин, В. П. Пузырев, Л. М. Огородова // Генетика человека. – 2002. – Т. 38, №12. – С. 1–9.
9. Li, L. Role of interleukin-4 genetic polymorphisms and environmental factors in the risk of asthma in children / L. Li, Y. Li, X. C. Zeng // GenetMolRes. – 2016. – Vol. 15, № 4. – P. 36–43

10. Davoodi, P. A preliminary study on the association of single nucleotide polymorphisms of interleukin 4 (IL4), IL13, IL4 receptor alpha (IL4R α) & Toll-like receptor 4 (TLR4) genes with asthma in Indian adults / P. Davoodi, P. A. Mahesh, A. D. Holla, N. B. Ramachandra // Indian J. Med. Res. – 2015. – Vol. 142, № 6. – P. 675–80.
11. Tang, L. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma: a meta-analysis / L. Tang, H. G. Lin, B. F. Chen // GenetMolRes. – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 1383–94.
12. Yang, H. J. Association between the interleukin-4 gene C-589T and C+33T polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis / H. J. Yang ArchMedRes. – 2013. – Vol. 44, № 2. – P. 127–35.
13. Freĭdin, M. B. Polymorphism of interleukins and interleukin receptor genes: population distribution and association with atopic bronchial asthma / M. B. Freĭdin, V. P. Puzyrev, L. M. Ogorodova // Genetika. – 2002. – Vol. 38, № 12. – P. 1710–8.
14. Melén, E. Interactions between glutathione S-transferase P1, tumor necrosis factor, and traffic-related air pollution for development of childhood allergic disease / E. Melén, F. Nyberg, C. M. Lindgren // Environ. Health Perspect. – 2008. – Vol. 116, № 8. – P. 1077–1084.
15. Padrón-Morales, J. Polymorphisms of the IL12B, IL1B, and TNFA genes and susceptibility to asthma / J. Padrón-Morales, C. Sanz, I. Dávila // Investig Allergol Clin Immunol. – 2013. – Vol. 23, № 7. – P. 487–94.
16. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 3 е изд., испр. и доп. — М.: Издательский дом «Атмосфера», 2008. – 108 с.
17. The Global Asthma Report 2014 [Электронный ресурс] : Maps data and resources. — Режим доступа: <http://www.globalasthmareport.org/resources/resources.php>

18. Chung, K. F. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma / K. F. Chung // *Eur Respir J.* – 2014. – Vol. 43. – P. 343–73.
19. To, T. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey / T. To // *BMC Public Health.* – 2012. – Vol. 12. – P. 204–211.
20. Chanez, P. Asthma: still a promising future? / P. Chanez, M. Humbert // *Eur Respir Rev.* – 2014. – Vol. 23. – P. 405–7.
21. Croisant, S. Epidemiology of asthma: prevalence and burden of disease / S. Croisant // *Adv Exp Med Biol.* – 2014. – Vol. 795. – P. 17–29.
22. Björkstén, B. Worldwide time trends for symptoms of rhinitis and conjunctivitis: Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood / B. Björkstén and the ISAAC Phase Three Study Group // *Pediatr Allergy Immunol.* – 2008. – Vol. 19, № 2. – P. 110–24.
23. Pearce, N. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) / N. Pearce and the ISAAC Phase Three Study Group // *Thorax.* – 2007. – Vol. 62. – P. 758–766
24. ISAAC [Электронный ресурс] : ISAAC Phase Three. – Режим доступа: <http://isaac.auckland.ac.nz/phases/phasethree/phasethree.html>
25. Asher, M. I. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys / M. I. Asher and the ISAAC Phase Three Study Group // *The Lancet* // 2006. – Vol. 368, № 9537. – P. 733–743.
26. Чучалин А. Г. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 3е изд., испр. и доп. / А. Г. Чучалин – М.: Издательский дом «Атмосфера», 2008. – 108 с.
27. GINA [Электронный ресурс] : A Pocket Guide for Physicians and Nurses Updated 2015. – Режим доступа : http://ginasthma.org/wp-content/uploads/2016/01/GINA_Pocket_2015.pdf

28. Ненашева, Н. М. Фенотипы бронхиальной астмы и выбор терапии / Н. М. Ненашева // Практическая пульмонология. – 2014. – № 2. – С. 1–10.
29. Свиридова, В. С. Иммунорегуляторные субпопуляции Т-клеток при опухолевом росте и аллергических заболеваниях / Свиридова В. С. // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – Т. 39, № 3. – С. 38–47.
30. Gibson, P. G. Inflammatory phenotypes in adult asthma: clinical applications / P. G. Gibson // Clin. Respir. J. – 2009. – V. 3. – P. 198–206.
31. Wilson, C. B. Epigenetic control of T-helper-cell differentiation / C. B. Wilson, E. Rowell, M. Sekimata // Nat. Rev. Immunol. – 2009. – V. 9. – P. 91–105.
32. Свиридова, В. С. Иммунорегуляторные субпопуляции Т-клеток при опухолевом росте и аллергических заболеваниях / С. В. Свиридова, В. В. Климов // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – Т. 39, № 3. – С. 38–47.
33. Кетлинский, С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский., А. С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
34. Козлов, В. А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: Руководство для врачей / В. А. Козлов, А. Г. Борисов, С. В. Смирнова. – Новосибирск: Наука, 2009. – 274 с.
35. Коненков, В. И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов / В. И. Коненков, М. В. Смольникова // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5. – № 1-2, – С. 11–28.
36. Фрейдин, М. Б. Генетика атопии: современное состояние / М. Б. Фрейдин, Е. Ю. Брагина, Л. М. Огородова // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т. 10, № 3. – С. 492–503.
37. Фрейдин, М. Б. Полиморфизм генов интерлейкинов и их рецепторов; популяционная распространенность и связь с атопической бронхиальной астмой / М. Б. Фрейдин, В. П. Пузырев, Л. М. Огородова // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 12. – С. 1–9.

38. Bidwell, J. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases / J. Bidwell, L. Keen, G. Gallageher // *Genes Immun.* – 1999. – Vol. 1, № 1. – P. 3–19.
39. Gray, I. C. Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics / I. C. Gray, D. A. Campbell, N. K. Spurr // *Hum. Mol. Genet.* – 2000. – Vol. 9. – P. 2403–2408.
40. Syvanen, A. C. SNP attack on complex traits. Editorial / A. C. Syvanen, A. Issacson, U. Gyllensten // *Nature Genet.* – 1998. – Vol. 20. – P. 217–218.
41. Reddel, H. K. Pharmacological strategies for self-management of asthma exacerbations / H. K. Reddel, D. J. Barnes // *ERJ.* – 2006. – Vol. 28, № 1. – P. 182–99.
42. Симбирцев, А. С. Функциональный полиморфизм генов регулярных молекул воспаления / А. С. Симбирцев, А. Ю. Громова // *Цитокины и воспаление.* – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3–10.
43. Цыган, В. Н. Генетический полиморфизм цитокинов / В. Н. Цыган, А. М. Иванов, Т. А. Камилова // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* – 2010. – Т. 30, № 2. – С. 211–219.
44. Chiang, C. H. Association between the IL-4 promoter polymorphisms and asthma or severity of hyperresponsiveness in Taiwanese / C. H. Chiang, Y. C. Tang, M. W. Lin // *Respirology.* – 2007. – Vol. 12, № 1. – P. 42–48.
45. Чучалин, А. Г. Эффективность фенспирида у больных хронической обструктивной болезнью легких / А. Г. Чучалин, Е. И. Шмелев, С. И. Овчаренко // *Consilium Medicum.* – 2005. – № 7. – 857 с.
46. Смирнова, С. В. Концентрация IL-2, IL-4, IL-6 и IFN γ в периферической крови и назальных смывах при респираторной атопии и псевдоатопии / С. В. Смирнова, Л. В. Зенкина, И. А. Игнатова // *Рос. аллергологический журнал.* – 2005. – № 1. – С. 30–34.
47. Kabesch, M. Polymorphisms in eosinophil pathway genes, asthma and atopy / M. Kabesch, M. Depner, I. Dahmen // *Allergy.* – 2007. – Vol. 62, № 7. – P. 423–8.

48. Robinson D. S. The role of the T cell in asthma / D. S. Robinson // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 126, No 6. – P. 1081–1091.
49. Назаров, П. Г. Цитокины и воспаление / П. Г. Назаров // Общество с ограниченной ответственностью. – 2007. – № 4. – С. 401–421
50. Bidwell, J. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. Supplement 1 / J. Bidwell, L. Keen, G. Gallageher // Genes Immun. – 2001. – Vol. 2, № 2. – P. 61–70.
51. Daneshmandi, S. Cytokine gene polymorphism and asthma susceptibility, progress and control level / S. Daneshmandi, A. A. Pourfathollah, Z. Pourpak // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, № 2. – P. 1845–1853.
52. Investig, J. Association of TNF-alpha -308 G/A and IL-4 -589 C/T gene promoter polymorphisms with asthma susceptibility in the south of Iran / J. Investig // Allergol. Clin. Immunol. – 2007. – Vol. 17, № 6. – P. 361–366.
53. Dmitrieva-Zdorova, E. V. Analysis of polymorphisms in T(H)2-associated genes in Russian patients with atopic bronchial asthma / E. V. Dmitrieva-Zdorova, O. E. Voronko, E. A. Latysheva // J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. – 2012. – Vol. 22, № 2. – P. 126–132.
54. Huang H. R. The association between IFN- γ and IL-4 genetic polymorphisms and childhood susceptibility to bronchial asthma / H. R. Huang, Y. Q. Zhong, J. F. Wu // Gene. – 2012. – Vol. 494, № 1. – P. 96–101.
55. Smolnikova, M. Association of Psoriasis and Asthma with the IL-4 and IL-10 Gene Polymorphism in Siberian / M. Smolnikova, S. Smirnova // Abst. 15th International Congress on circumpolar Health. – 2012. – T. 39. – P. 171–172.
56. Berenguer, A. Genetic polymorphisms and asthma: findings from a case-control study in the Madeira island population / A. Berenguer, A. Fernandes, S. Oliveira // Biol Res. – 2014 Vol. 47, No 1. – P. 40–45
57. Narožna, B. Polymorphisms in the interleukin 4, interleukin 4 receptor and interleukin 13 genes and allergic phenotype: A case control study / B. Narožna, A. Hoffmann, P. Sobkowiak // Adv Med Sci. – 2015 Vol. 61, No 1. – P. 40–45.

58. Zhang, S. Interleukin-4 -589C/T Polymorphism is Associated with Increased Pediatric Asthma Risk: A Meta-Analysis / S. Zhang, Y. Liu Y. Li // *Inflammation*. – 2015 Vol. 38, No 3. – P. 1207–1212.
59. Zhang, S. Interleukin-4 -589 C/T Polymorphism is Associated with Increased Pediatric Asthma Risk: A Meta-Analysis / S. Zhang, Y. Li, Y. Liu // *Inflammation*. – 2015. – Vol. 38, № 3. – P. 1207–12.
60. Ризванова, Ф. Ф. Генетическая диагностика: полиморфизм генов цитокинов / Ф. Ф. Ризванова, О. И. Пикуза, Р. А. Файзуллина // *Практическая медицина*. – 2010. – Т. 45, № 6. – С. 41–43.
61. Zhang, J. H. Association between the interleukin 4 gene -590 C>T promoter polymorphism and asthma in Xinjiang Uighur children / J. H. Zhang, G. H. Zhou, T. T. Wei // *GenetMolRes*. – 2016. – Vol. 15, № 3. – P. 8–16
62. Davoodi, P. A preliminary study on the association of single nucleotide polymorphisms of interleukin 4 (IL4), IL13, IL4 receptor alpha (IL4R α) & Toll-like receptor 4 (TLR4) genes with asthma in Indian adults / P. Davoodi, P. A. Mahesh, A. D. Holla // *Indian J Med Res*. – 2015. – Vol. 142, № 6. – P. 675–80.
63. Zhu, N. Association between the polymorphisms of interleukin-4, the interleukin-4 receptor gene and asthma / N. Zhu, Y. Gong // *Chin Med J (Engl)*. – 2013. – Vol. 126, № 15. – P. 2943–51.
64. Yang, H. J. Association between the interleukin-4 gene C-589T and C+33T polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis / H. J. Yang // *Arch Med Res*. – 2013. – Vol. 44, № 2. – P. 127–35.
65. Tang, L. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma: a meta-analysis / L. Tang, H. G. Lin, B. F. Chen. *Genet Mol Res*. – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 1383–94.
66. Liu, Y. The -33C/T polymorphism in the interleukin 4 gene is associated with asthma risk: a meta-analysis / Y. Liu, A. Zhuo, W. Liu // *J Investig Allergol Clin Immunol*. – 2014. – Vol. 24, № 2. – P. 114–21.


67. Micheal, S. IL-4 gene polymorphisms and their association with atopic asthma and allergic rhinitis in Pakistani patients / S. Micheal, K. Minhas, M. Ishaque // *Investig Allergol Clin Immunol.* – 2013. – Vol. 23, № 2. – P. 107–11
68. Wang, Z. D. Association between the interleukin-4, interleukin-13 polymorphisms and asthma: a meta-analysis / Z. D. Wang, D. Lian, J. L. Shen // *Mol Biol Rep.* – 2013. – Vol. 40, № 2. – P. 1365–76.
69. Murphy, J. M. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor / J. M. Murphy, I. G. Young // *VitamHorm.* – 2006.- Vol. 74. – P. 1–30.
70. Мордвинов, В. А. Цитокины: биологические свойства и регуляция экспрессии гена интерлейкина-5 человека / В. А. Мордвинов, Д. П. Фурман // *Вестник ВОГиС.* – 2009. – Т.13, № 1. – С. 53–67.
71. Luger, T. A. Cytokine regulation in the skin. XV International congress of allergology and clinical immunology / T. A. Luger // *Stockholm. Sweden.* – 1994. – P. 26–34.
72. Takatsu, K. Role of interleukin 5 in immune regulation and inflammation / K. Takatsu // *Nippon Rinsho.* – 2004. – Vol. 62, № 10. – P. 1941–51.
73. Zabeau, L. Interleukin 5, eosinophilic diseases and therapeutic intervention / L. Zabeau, P. Gevaert, C. Bachert // *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* – 2003. – Vol. 2, № 4. – P. 319–28.
74. Сазонов, А. Э. Роль интерлейкина-5 при бронхиальной астме и регуляция его продукции: автореф. дис. доктора мед. наук : 14. 00. 16 / Алексей Эдуардович Сазонов. – Томск, 2004. – 44 с.
75. Lloyd, C. M. Regulatory T cells in asthma / C. M. Lloyd, C. M. Hawrylowicz // *Immunity.* – 2009. – Vol. 31, № 3. – P. 438–49.
76. Varricchi, G. Reslizumab and Eosinophilic Asthma: One Step Closer to Precision Medicine / G. Varricchi, G. Senna, S. Loffredo // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 242–249.

77. Hunger, S. P. HRX involvement in de novo and secondary leukemias with diverse chromosome 11q23 abnormalities [see comments] / S. P. Hunger // *Blood*. – 1993. – Vol. 81. – P. 3197–3203
78. Kabesch, M. Polymorphisms in eosinophil pathway genes, asthma and atopy / M. Kabesch, M. Depner, I. Dahmen // *Allergy*. – 2007. – Vol. 62, № 4. – P. 423–8.
- 79.
80. Hong, S. J. IL-5 and thromboxane A2 receptor gene polymorphisms are associated with decreased pulmonary function in Korean children with atopic asthma / S. J. Hong, S. Y. Lee, H. B. Kim // *J Allergy Clin Immunol*. – 2005. – Vol. 115, № 4. – P. 758–63.
81. Hong, S. J. IL-5 and thromboxane A2 receptor gene polymorphisms are associated with decreased pulmonary function in Korean children with atopic asthma / S. J. Hong, S. Y. Lee, H. B. Kim // *J Allergy Clin Immunol*. – 2005. – Vol. 115, № 4. – P. 758–63.
82. Kabesch, M. Polymorphisms in eosinophil pathway genes, asthma and atopy / M. Kabesch // *Allergy*. – 2007. – Vol. 62, № 4. – P. 423–8.
83. Freidin, M. B. Association of polymorphisms in the human IL4 and IL5 genes with atopic bronchial asthma and severity of the disease / M. B. Freidin, O. S. Kobyakova, L. M. Ogorodova // *Comp Funct Genomics*. – 2003. – Vol. 4, № 3. – P. 346–50.
84. Freidin, M. B. Polymorphism of interleukins and interleukin receptor genes: population distribution and association with atopic bronchial asthma / M. B. Freidin, V. P. Puzyrev, L. M. Ogorodova // *Genetika*. – 2002. – Vol. 38, № 12. – P. 1710–8.
85. Zhang, H. Association of IL4R gene polymorphisms with asthma in Chinese populations / H. Zhang, Q. Zhang, L. // *Wang Hum Mutat*. – 2007. – Vol. 28, № 10. – P. 1046–1052.
86. Losol, P. IL-5 Promoter Polymorphism Enhances IgE Responses to Staphylococcal Superantigens in Adult Asthmatics / P. Losol, S. H. Kim // *Allergy Asthma Immunol Res*. – 2015. – Vol. 5, № 2. – P. 106–9.

87. Johansson S.G. EAACI (the European Academy of Allergology and Clinical Immunology) nomenclature task force. A revised nomenclature for allergy / S. G. Johansson // *Allergy*. – 2001. – V. 56. – P. 813–821.
88. March, M. E. The genetics of asthma and allergic disorders / M. E. March, P. M. Sleiman, H. Hakonarson // *Discov. Med.* – 2011. – Vol. 11, № 56. – P. 35–45.
89. Demoly P. Update on asthma control in five European countries: results of a 2008 survey / P. Demoly // *Eur. Respir. Rev.* – 2010. – Vol. 19. – P. 150–157.
90. IGSR: The International Genome Sample Resource [Электронный ресурс] : Providing ongoing support for the 1000 Genomes Project data. – Режим доступа: <http://www.internationalgenome.org/about>

Федеральное государственное автономное образовательное
Учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт Фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой



« 20 » июня 20 17 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА СО
СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ И УРОВНЕМ КОНТРОЛЯ АТОПИЧЕСКОЙ
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

03.04.02 «Физика»

По программе 03.04.02.07 «Биофизика»

Руководитель



к.б.н. Смольникова М. В.

Выпускник



Иванова В.Б.

Рецензент



к. б. н. Брагина Е. Ю.

Красноярск 2017